

## MINERALS MODIFIED GLUTAMATE MEDIUM (MMGM) BASE

Terreno in polvere e pronto per l'uso in provetta per la determinazione con metodo MPN di *Escherichia coli* presunto negli alimenti e nei mangimi in accordo a ISO 16649-3

### FORMULA TIPICA DEL TERRENO IN POLVERE (4017372) (g/L)

	Terreno 2X	Terreno 1X
Lattosio	20,000	10,000
Sodio formiato	0,500	0,250
L-cistina	0,040	0,020
Acido L(-) aspartico	0,048	0,024
L(+) arginina	0,040	0,020
Tiamina	0,002	0,001
Acido nicotinico	0,002	0,001
Acido pantotenico	0,002	0,001
Magnesio solfato . 7H <sub>2</sub> O	0,200	0,100
Ferro III ammonio citrato	0,020	0,010
Calcio cloruro . 2H <sub>2</sub> O	0,020	0,010
Dipotassio idrogeno fosfato	1,800	0,900
Bromocresolo porpora	0,020	0,010

### FORMULE TIPICHE DEL TERRENO PRONTO IN PROVETTA (g/L)

	Terreno 2X 551737D	Terreno 1X 551737
Lattosio	20,000	10,000
Sodio formiato	0,500	0,250
L-cistina	0,040	0,020
Acido L(-) aspartico	0,048	0,024
L(+) arginina	0,040	0,020
Tiamina	0,002	0,001
Acido nicotinico	0,002	0,001
Acido pantotenico	0,002	0,001
Magnesio solfato . 7H <sub>2</sub> O	0,200	0,100
Ferro III ammonio citrato	0,020	0,010
Calcio cloruro . 2H <sub>2</sub> O	0,020	0,010
Dipotassio idrogeno fosfato	1,800	0,900
Bromocresolo porpora	0,020	0,010
Ammonio cloruro	5,000	2,500
Sodio glutammato	12,700	6,350

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

#### Terreno a concentrazione semplice

Sospendere 2.5 g di ammonio cloruro in 1000 ml di acqua distillata fredda; aggiungere 11.35 di MMGM Base e 6.35 g di Sodio Glutammato (4123642). Mescolare per sciogliere completamente. Distribuire 10 ml in provette da 16 x 160 mm. Autoclavare a 116°C per 10 minuti o scaldare a 100°C per 30 minuti in tre giornate successive.  
pH finale 6.7 ± 0.1

#### Terreno a doppia concentrazione

Sospendere 5 g di ammonio cloruro in 1000 ml di acqua distillata fredda; aggiungere 22,7 di MMGM Base e 12,7 g di Sodio Glutammato (4123642). Mescolare per sciogliere completamente. Distribuire 10 ml in provette da 18 x 180 mm o da 20 x 200 mm. Autoclavare a 116°C per 10 minuti o scaldare a 100°C per 30 minuti in tre giornate successive.  
pH finale 6.7 ± 0.1

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN PROVETTA

I due terreni a concentrazione semplice ed a concentrazione doppia sono pronti per l'uso.

**IMPIEGO**

La norma ISO 16649-3 raccomanda la seguente tecnica per la determinazione di *E.coli* negli alimenti con metodo MPN:

1. Seminare 3 provette con 10 ml di terreno a doppia concentrazione con 10 ml del campione da esaminare, se è liquido, o 10 ml della sospensione madre se solido.
2. Seminare 3 provette con 10 ml di terreno a concentrazione semplice con 1 ml del campione da esaminare, se è liquido, 1 ml della sospensione madre se solido.
3. Per ciascuna delle diluizioni successive (a partire da 1/10 o 1/100 a seconda dei casi) seminare 3 provette di terreno a concentrazione semplice con 1 ml di ciascuna diluizione.
4. Incubare le provette a doppia concentrazione ed a concentrazione semplice in termostato a 37°C per 24 ± 2 ore.
5. A partire da ciascuna provetta di terreno che mostra una colorazione gialla (produzione di acidità) trapiantare un'ansata di brodocoltura su piastre di Tryptone Bile X-GLUC (TBX) Agar (402156) strisciando l'inoculo per ottenere colonie isolate; incubare le piastre a 44°C per 20-24 ore.
6. Osservare per la presenza di colonie blue o verde blu (*E.coli* β-glucuronidasi positivo).
7. Considerare positive le provette a semplice o doppia concentrazione che abbiano dato origine a piastre con colonie blu o verde-blu e esprimere i risultati facendo uso delle apposite tabelle MPN.

**CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE**

Controllo produttività

*E.coli* ATCC 25922: crescita con viraggio al giallo del brodo

Controllo selettività

*E.faecalis* ATCC 19433: parzialmente inibito

Incubazione 37°C per 24 ore

**CONSERVAZIONE**

Terreno in polvere (4017372)

Conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Terreno pronto all'uso in provetta (551737, 551737D)

Conservare a 2-8°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

**PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI**

Terreno in polvere (4017372)

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione di questo terreno deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Terreno in provetta (551737-551737D)

Il preparato qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente.

**BIBLIOGRAFIA**

- ISO 16649-3: 2015 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* -- Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-glucuronide.

**CONFEZIONI**

Terreno in polvere

**4017372 Mineral Modified Glutamate Medium (MMGM) Base 500 g**

Materiale aggiuntivo

**4123642 Sodium Glutamate 300 g**

Terreno pronto all'uso in provetta

**551737 Mineral Modified Glutamate Medium (provette 17x125mm) 20 x 10 ml**

**551737D Mineral Modified Glutamate Medium 2X (provette 17x145mm) 20 x 10 ml**